



УДК 615.32.072

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ В ЛИСТЬЯХ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ

О.В. ТРИНЕЕВА
С.С. ВОРОПАЕВА
А.И. СЛИВКИН

*ФГБОУ ВПО Воронежский
государственный университет*

e-mail: trineevaov@mail.ru.

Усовершенствована методика комплексонометрического количественного определения содержания магния и кальция в листьях крапивы двудомной с использованием индикаторов пирокатехинового фиолетового и кислотного хромового темно-синего. Выбраны оптимальные условия извлечения кальция и магния из изучаемого сырья. Результаты свидетельствуют о перспективности включения определения данных показателей качества в современную нормативную документацию.

Ключевые слова: соли кальция и магния, комплексонометрия, металлоиндикаторы, листья крапивы двудомной, стандартизация.

Минеральные вещества как компонент метаболизма лекарственных растений дополняют и усиливают их лечебное воздействие на организм [1]. Особый интерес вызывает кальций, который участвует в процессах передачи нервных импульсов, обеспечивает равновесие между процессами возбуждения и торможения в коре головного мозга, играет большую роль в регуляции сократимости скелетных и сердечных мышц, влияет на кислотно – щелочное равновесие организма, обеспечивает активность ряда ферментов и т.д. Лекарственные растения, в которых макро – и микроэлементы находятся в биоусвояемой форме, могут быть эффективными для нормализации минерального баланса [1].

Листья крапивы двудомной являются официальным растительным сырьем, включенным в ГФ XI изд. [2]. Основное применение сырья и препаратов на его основе находит в качестве кровоостанавливающего средства. Данный фармакологический эффект, в основном, присвоен содержащимся в листьях крапивы жирорастворимым витаминам группы К [3]. Однако, известно также, что в крапиве содержится значительное количество оксалата кальция, сопровождающего в виде друз, проводящие пучки растения [4]. Витамин К в печени способствует синтезу специфических белков и ферментов свертывающей системы крови, а кальций в плазме участвует в процессах их активации. Именно на синергизме действия основан кровоостанавливающий эффект крапивы, в результате чего она имеет широкое применение в практической медицине, несмотря на представленный ассортимент синтетических лекарственных препаратов. Однако в ФС отсутствуют методики количественного определения действующих веществ, что не соответствует современному уровню развития фармацевтической науки в целом [2].

Обычно минеральный состав растений определяется атомно-абсорбционным методом после сухого и мокрого озоления [1,5,6]. В российских и зарубежных нормативных документах (НД) в лекарственных субстанциях и лекарственных формах, содержащих кальций, ионы этого металла определяют комплексонометрическим титрованием [7-10]. Известными учеными Первого московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова в области фармакогнозии (Сорокина А.А. с соавторами) разработана и запатентована методика количественного определения кальция и магния в лекарственном растительном сырье [1,5,6]. Однако, в способе не обоснованы оптимальные условия извлечения кальция и магния из изучаемого сырья.

Цель настоящего исследования – совершенствование методики комплексонометрического количественного определения содержания кальция и магния в листьях крапивы двудомной с экспериментальным обоснованием оптимальных условий извлечения микроэлементов из изучаемого сырья.

Экспериментальная часть. В качестве объекта исследования использовали готовое измельченное сырье листьев крапивы двудомной в фильтр-пакетах, выпускаемое ЗАО «Здоровье» и приобретенное в аптечной сети г. Воронежа.

Количественное определение: около 4 г измельченного сырья (точная навеска) с размером частиц 0,5-1,0 мм помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 200 мл воды очищенной. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане в те-



чение 60 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Затем колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный экстрагентом, в мерную колбу вместимостью 200 мл. Если требуется объем извлечения доводят до метки водой очищенной.

Определение магния: 10 мл извлечения помещают в колбу для титрования, прибавляют 50 мл воды очищенной, 4 мл аммиачного буфера, несколько крупинок индикатора пирокатехинового фиолетового и титруют 0,05 М раствором трилона Б до перехода окраски от зеленовато-синей до красно-вишневой. Содержание магния в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{V \cdot 0,0012 \cdot 200 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)}$$

где 0,0012 – количество магния, соответствующее 1 мл раствора трилона Б (0,05 моль/л), в граммах; V – объем раствора трилона Б (0,05 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах; m – масса сырья в граммах; W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Определение кальция: к извлечению добавляют кристаллический натрия гидроксид до pH=12,0-13,0 (по универсальной индикаторной бумаге), в результате чего ионы магния выпадают в виде студенистого осадка гидроксида магния. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр. Затем 5 мл фильтрата помещают в колбу для титрования, прибавляют 50 мл воды очищенной, несколько крупинок индикатора кислотного хромового темно – синего и титруют 0,05 М раствором трилона Б до перехода окраски от розово-сиреневой до фиолетово – синей. Содержание кальция в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{V \cdot 0,002 \cdot 200 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 5 \cdot (100 - W)}$$

где 0,002 – количество кальция, соответствующее 1 мл раствора трилона Б (0,05 моль/л), в граммах; V – объем раствора трилона Б (0,05 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах; m – масса сырья в граммах; W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Обсуждение результатов. Для установления полноты экстракции кальция и магния из листьев крапивы двудомной изучали влияние размера частиц сырья, соотношения сырья и экстрагента, оптимального времени и кратности экстракции (рис. 1-3, табл. 1), а также pH – экстрагента (табл. 2).

Размер частиц неоднозначным образом сказывается на выделении кальция и магния из ЛРС. Магний лучше всего экстрагируется при измельчении листьев крапивы менее 0,2 мм. В то же время наибольшее количество кальция в извлечении наблюдается при использовании сырья с размером частиц от 0,5 до 2,0 мм (рис. 1). Наилучшим экстрагентом для выделения кальция является вода очищенная. При использовании кислоты хлористоводородной разведенной возрастает выход магния из ЛРС (почти в 2 раза). Это связано с интенсивным разрушением хлорофиллов в кислой среде. Выход же кальция при этом снижается более, чем в семь раз (табл. 2). Являясь антагонистами внутри живой клетки, кальций и магний конкурируют в процессе соэкстракции. Оптимальным экстрагентом для одновременного выделения данных микроэлементов является вода очищенная при соотношении сырья с размером частиц 0,5 – 1,0 мм и экстрагента 1:50 (табл. 1 и 2).

Оптимальное время экстракции, согласно экспериментальным данным, составило 60 минут (рис. 2). Дальнейшее увеличение времени, как и кратности экстрагирования нецелесообразно, так как не приводит к увеличению выхода микроэлементов из ЛРС (рис. 3).

При сравнении полученных экспериментальных данных с результатами определения кальция и магния в листьях крапивы двудомной в работах Сорокиной А.А. (с соавторами), установлено, что в результате усовершенствования методики, выход элементов в извлечение повышается примерно в два раза (табл. 3).

Для сравнения полученных данных количественного определения с результатами содержания кальция и магния в настое, приготовленном в домашних условиях, проводили определение микроэлементов в извлечении, полученном по методике ГФ XI [2], а также согласно рекомендациям на упаковке (табл. 4). Данные таблицы 4 свидетельствуют, что в качестве кровоостанавливающего средства, оптимальным является применение настоя из листьев крапивы двудомной, полученного по ГФ XI.

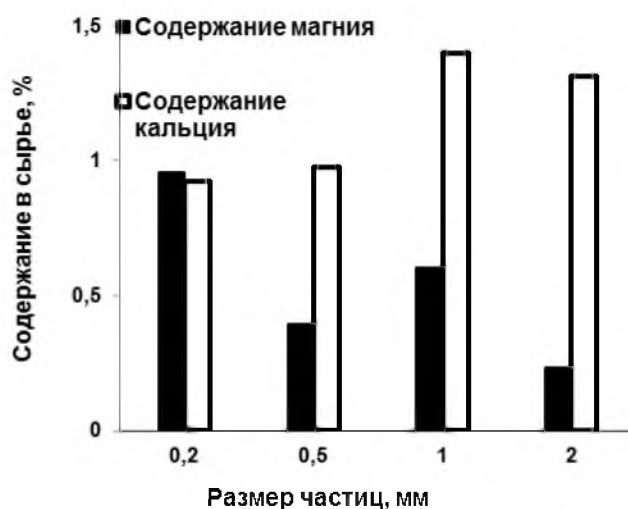


Рис. 1. Содержание кальция и магния в извлечении в зависимости от размера частиц

Таблица 1

Влияние соотношения сырья и экстрагента на извлечение кальция и магния из листьев крапивы двудомной

№ п/п	Соотношение сырья и экстрагента	Содержание, %	
		кальций	магний
1	1:10	0,7559	0,4847
2	1:25	0,9769	0,6025
3	1:50	2,1788	0,8095
4	1:100	1,8848	0,8123

Таблица 2

Влияние экстрагента на извлечение кальция и магния из листьев крапивы двудомной

№ п/п	Экстрагент	рН-экстрагента	Содержание, %	
			кальций	магний
1	Вода очищенная	5,0-6,0	2,312	0,998
2	Кислота хлористоводородная разведенная	1,0-2,0	0,321	1,743

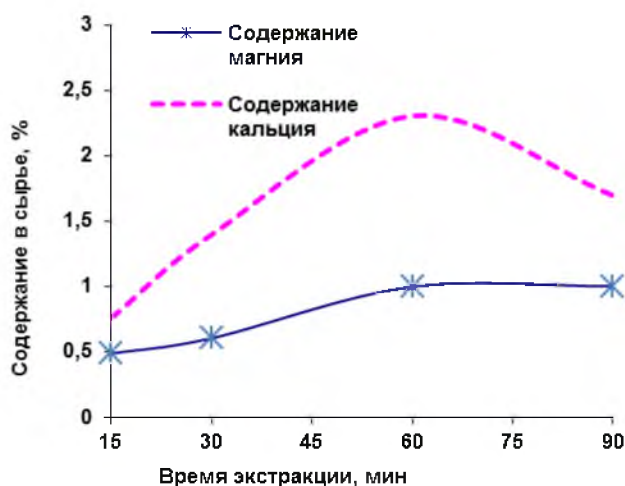


Рис. 2. Влияние времени экстракции на извлечение кальция и магния из листьев крапивы двудомной

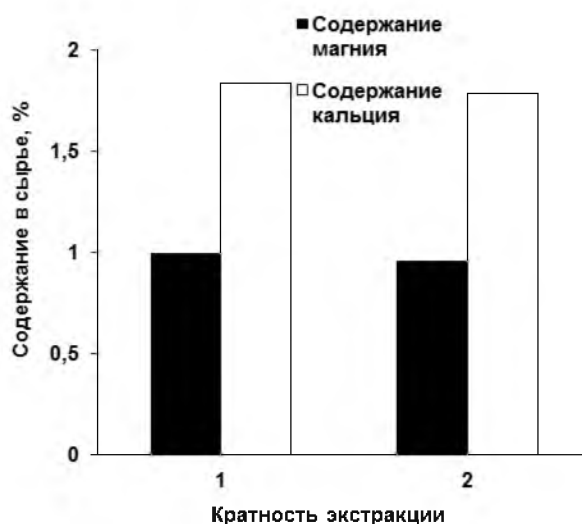


Рис. 3. Влияние кратности экстракции на извлечение кальция и магния из листьев крапивы двудомной

Таблица 3

Сравнительная оценка содержания кальция и магния в листьях крапивы двудомной

№ п/п	Методика определения	Содержание, %	
		кальций	магний
1	Данные Сорокиной А.А. с соавторами	2,1788	0,8095
2	Экспериментальные данные	0,9900	0,4990

Таблица 4

Сравнительная оценка содержания кальция и магния в извлечениях при различных способах приготовления

№ п/п	Название метода	Содержание, %	
		кальций	магний
1	Получение настоя по ГФ XI	0,068	0,088
2	Извлечение по методике авторов	0,040	0,017
3	Получение настоя как указано на упаковке	0,010	0,006

Результаты определения кальция и магния в листьях крапивы двудомной в пересчете на абсолютно сухое сырье и метрологическая характеристика методики представлены в таблице 5.

Таблица 5

Метрологическая характеристика метода анализа (n=4; P = 95 %)

$\bar{x}_{\text{ср}}$	S^2	S	$Sx_{\text{ср}}$	t (P,t)	Δx	$\Delta x_{\text{ср}}$	$\varepsilon_{\text{ср}}, \%$
Определение кальция							
2,3124	0,000462	0,0215	0,01075	3,18	0,068	0,034	1,47
Определение магния							
0,9981	0,002366	0,0486	0,0243	3,18	0,155	0,0775	7,76

Выводы:

1. Усовершенствована методика количественного определения кальция и магния в листьях крапивы двудомной, которая может быть учтена при разработке современной НД.
2. Выбраны оптимальные условия одновременного извлечения кальция и магния из листьев крапивы двудомной.



3. Проведена сравнительная оценка содержания кальция и магния в извлечениях из листьев крапивы двудомной, полученных различными способами.

4. Результаты свидетельствуют о перспективности стандартизации сырья крапивы двудомной, как кровоостанавливающего средства, по содержанию витамина К и микроэлемента кальция.

Литература

1. Сорокина А.А. Определение кальция и магния в листьях и настое крапивы двудомной / А.А. Сорокина, Т.А. Скалзубова, А.И. Марахова // Фармация. – № 2. – 2013. – С. 5-8.
2. Государственная фармакопея XI изд. Вып. 2. М.: Медицина, 1990. – С. 274-275.
3. Булаев В.М. Безопасность и эффективность лекарственных растений / В.М. Булаев, Е.В. Ших, Д.А. Сычев // учеб. пос. – 2-е изд. – М.: Практическая медицина, 2013. – 272 с.
4. Самылина И.А. Фармакогнозия. / И.А. Самылина, О.Г. Аносова // Атлас: уч. пособ в 2-х т. М.:ГЕОТАР-Медиа, 2007. – Т.2. – 384 с.
5. Скалзубова Т.А., Марахова А.И., Федоровский Н.Н. Патент РФ № 2466387 от 10.11.2012. Способ количественного определения кальция и магния в лекарственном растительном сырье. Патентообладатель: ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития России. Классы МПК: G01N31/16.
6. Скалзубова Т.А. Количественное определение кальция и магния в листьях и настое крапивы двудомной / Т.А. Скалзубова, А.И. Марахова, А.А. Сорокина // Сборник научных трудов: «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции». – Пятигорск. – 2012. – С. 179-180.
7. Трубачева Л.В. Определение содержания ионов кальция в водах различного типа с помощью металлоиндикаторов / Л.В. Трубачева, С.Ю. Лоханина // Химия. – №8. – 2005. – С. 211-222.
8. Трубачева Л.В. Металлохромные индикаторы при определении содержания ионов кальция в водных растворах / Л.В. Трубачева, С.Ю. Лоханина // Химия. – №8. – 2005. – С. 127-136.
9. ГОСТ 1219.1-74. Метод определения содержания кальция.
10. РД 34.37.305.7-97. Раздельное определение содержания кальция и магния в присутствии железа и меди комплексонометрическим методом с индикатором кислотным хром темно-синим.

IMPROVED METHODS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF CALCIUM AND MAGNESIUM IN NETTLE LEAVES

**O.V. TRINEEVA
S.S. VOROPAeva
A.I. SLIVKIN**

FSU HPE Voronezh State University
e-mail:trineevaov@mail.ru

Methods complexometric quantitation titration of magnesium and calcium in nettle leaves using indicators pyrocatechol purple and acid chrome dark blue have been improved. The optimum conditions for extraction of calcium and magnesium from the studied material have been selected. Results shows of promising to include a definition of data quality metrics in modern regulatory documentation.

Keywords: calcium and magnesium salts, complexometric titration, metalloindicators, nettle leaves, standardization.